



Transcription factor MafB in podocytes protects against the development of focal segmental glomerulosclerosis.

| | |
|----------|---|
| 内容記述 | この博士論文は内容の要約のみの公開（または一部非公開）になっています |
| year | 2019 |
| その他のタイトル | ポドサイトにおける転写因子MafBは巣状分節性糸球体硬化症の発症を防ぐ。 |
| 学位授与大学 | 筑波大学 (University of Tsukuba) |
| 学位授与年度 | 2018 |
| 報告番号 | 12102甲第9178号 |
| URL | http://hdl.handle.net/2241/00156465 |

論文概要(Thesis Abstract)

○ 論文題目 (Theme)

Transcription factor MafB in podocytes protects against the development of focal segmental glomerulosclerosis.

(ポドサイトにおける転写因子 MafB は巣状分節性糸球体硬化症の発症を防ぐ。)

○ 指導教員 (Supervisor)

人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 山縣 邦弘 教授

(所属) 筑波大学大学院人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻
(your position)

(氏名) 臼井 俊明
(your name)

目的：

巣状分節性糸球体硬化症 (FSGS: focal segmental glomerulosclerosis) は、ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群の原因となる代表的な疾患である。FSGS は自然寛解することは稀であり、20 年の経過で約 60% が末期腎不全 (ESRD: end-stage renal disease) になるとされている。転写因子 MafB は糸球体上皮細胞（ポドサイト）の発生において、その成熟・足突起形成に重要である。MafB は成体のポドサイトで発現が持続しているが、全身で MafB を欠損させたマウスは出生直後に死亡してしまう。そのため、成体のポドサイトにおける MafB の機能は分かっていなかった。最近になり、ヒト MAFB の変異が報告され、FSGS を呈して、ESRD に進行することが報告された。FSGS は、ポドサイト障害が原因でおくとされていることから、ポドサイトにおける MafB の機能と慢性腎臓病（特に FSGS）との関連の解析を行うことを目的とした。

対象と方法：

1：ヒト腎生検検体を用いた解析

MAFB の DNA-binding domain に変異のある患者は、外転神経麻痺を呈する Duane retraction syndrome (DRS) と FSGS を合併する。DRS を合併した FSGS を呈する 3 名の患者 (FSGS-DRS) において、腎生検検体での MAFB 免疫染色を行った。また、微小変化型ネフローゼ症候群、IgA 腎症、一次性 FSGS、糖尿病性腎症の患者の腎生検検体で、MAFB 免疫染色を行い、その発現を比較した。

2：MafB cKO (コンディショナルノックアウト)マウスを用いた解析

タモキシフェン (TAM) を投与することで、ポドサイト特異的・時期特異的に MafB を欠損させることができる *Ma**fb**^{fl}_{ox}/fl_{ox}::NPHS2-Cre* ER^{T2} マウスに対し、6 週齢で TAM 投与を行って、ポドサイト特異的に MafB を欠損させた MafB cKO マウスを作製した。コントロールは *Ma**fb**^{fl}_{ox}/fl_{ox}* マウスとした。TAM 投与後の尿蛋白推移・単離糸球体の *Ma**fb*** 発現量の推移を調べた。TAM 投与前と投与後 16 週で血清クレアチニンと BUN・尿アルブミンの評価を行った。TAM 投与 8 週で単離糸球体 RNAseq を行って分子メカニズムの検索を行い、標的遺伝子と考えられる遺伝子に対して、ルシフェラーゼ Assay を行い、標的遺伝子がコードするタンパク質の発現量を FSGS-DRS 患者の腎生検サンプルと MafB cKO マウスにおいて MafB 免疫染色を行って評価した。

3 : MafB TG (過剰発現) マウスを用いた解析

ポドサイト特異的に MafB を過剰発現させた (MafB TG) マウスと、野生型 (WT: Wild-Type) マウスに対して、アドリアマイシン (ADR: Adriamycin) を投与して FSGS を誘導し、尿蛋白と腎組織評価を行った。MafB 誘導剤であるオールトランスレチノイン酸 (atRA: all-trans retinoic acid) の投与をマウスポドサイトの cell-line で行い、*Mafb* の発現量を評価した。次に、WT マウスに FSGS を誘導し、atRA の投与で FSGS を防御できるかの検討を行った。

結果 :

1 : ヒト腎生検検体を用いた解析

FSGS-DRS 患者の腎生検検体において、ポドサイトにおける MAFB の発現が低下していた。ヒト疾患別の MAFB の発現解析では、一次性 FSGS と糖尿病性腎症においてポドサイトの MAFB 陽性細胞数が有意に減少していた。ポドサイト数で補正すると FSGS で MAFB 陽性細胞数が有意に減少していた。

2 : MafB cKO マウスを用いた解析

MafB cKO マウスの単離糸球体では、TAM 投与 1 週間後に、*Mafb* 発現は 10% 以下まで低下していた。MafB cKO マウスは、大量アルブミン尿と FSGS 様の腎組織変化を呈し、腎不全を発症して生存率が低下した。MafB cKO マウス単離糸球体での RNAseq から、スリット膜関連蛋白 (*Nphs1* と *Magi2*) とポドサイト特異的転写因子 (*Tcf21*) の発現低下を認めた。ルシフェラーゼ Assay の結果、MafB が直接、前述の遺伝子発現(*Nphs1*・*Magi2*・*Tcf21*)を制御していることがわかった。腎免疫染色の結果においても MafB cKO マウスと、ヒト MAFB 変異患者の両方で *Nphs1*、*Magi2*、*Tcf21* の低下を認めた。

3 : MafB TG マウスを用いた解析

ポドサイトに MafB を過剰発現させた MafB TG マウスでは、ADR による FSGS モデルの糸球体障害が WT マウスよりも軽減し、尿蛋白も減少していた。atRA の投与で、ポドサイトの cell-line で濃度依存性に *Mafb* 発現が上昇した。また ADR による FSGS マウスモデルにおいても、atRA の投与により単離糸球体の *Mafb* 発現が上昇し、尿蛋白が減少して FSGS 防御的に働くことがわかった。

考察 :

以上の結果によって、ヒトとマウス両方において、ポドサイトでの MafB の発

現低下は、FSGS の病態形成に関連している可能性が高い。MafB はスリット膜関連蛋白 (Nphs1 と Magi2) とポドサイト特異的転写因子 (Tcf21) の転写を制御し、ポドサイト機能維持に必須であると考察される。加えて、ポドサイト特異的に MafB を過剰発現させたマウスと atRA の投与の両方において、マウス FSGS モデルで糸球体障害が改善しており、MafB が慢性腎臓病のポドサイト障害に対して保護的な役割を持つことを示唆している。

結論：

著者は、ポドサイトにおいて MafB がスリット膜関連タンパクとポドサイト特異的転写因子を制御しており、ポドサイト機能維持に必須であること、ポドサイトの MafB 欠損により FSGS を引き起こすことを明らかにした。MafB をポドサイトで過剰発現させることで、マウスの FSGS に対して保護的に作用しており、本研究は、MafB が FSGS の治療ターゲットとなり得るという、新たな知見を与えるものである。